

# Comunicado 169

---

## Técnico

ISSN 9192-0099  
Setembro, 2007  
Brasília, DF

### ISOLAMENTO DE UM MICROSPORÍDEO DA LAGARTA DA SOJA, *Anticarsia gemmatalis*

Silva  
J.B.T.  
Nascimento  
J.D.  
Siqueira  
C.B.

---

#### Introdução

A lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), é uma das principais pragas desfolhadoras de plantações de soja, sendo encontrada desde a Argentina até os EUA. No Brasil, onde é considerada praga-chave, é responsável por mais de 50% das aplicações de inseticidas químicos utilizadas nessa cultura (Moscardi 1998).

Numa tentativa de diminuir a densidade populacional dessa praga várias alternativas têm sido realizadas, entre elas a utilização de inimigos naturais, principalmente de microrganismos. O exemplo de maior êxito, tem sido o do Baculovírus anticarsia, cuja aplicação em uma área superior a um milhão de hectares em lavouras de soja e, atualmente, considerado o maior programa de controle microbiano de insetos (Moscardi 1999), vem resultando em uma economia superior a 10 milhões de dólares em inseticidas químicos e com grande benefício ambiental (Souza 2001).

O interesse no uso de microrganismos, particularmente de bactérias, fungos e vírus, como agentes de controle de insetos tem aumentado significativamente nos últimos anos. Os protozoários, em menor escala, vêm também sendo pesquisados o seu potencial, pois são conhecidos como importantes agentes na regulação natural da população de insetos. Entre eles, os mais promissores são os microsporídeos, parasitas esporogênicos intracelulares e considerados o mais importante grupo dos protozoários entomopatogênicos (Street & McGuire 1990). Microsporídeos têm sido isolados de várias espécies de lepidópteras (Vavra et al, 2006).

A maioria dos protozoários entomopatogênicos são geralmente encontrados no trato intestinal dos insetos, mas as formas virulentas ocorrem nos Phyla Apicomplexa e Microspora, principalmente aqueles que invadem a hemolinfa e apresentam desenvolvimento intracelular.

No Brasil, os estudos com protozoários entomopatogênicos são incipientes, particularmente em se tratando de protozoários de insetos (Silva et al, 1999).

## **OBJETIVO:**

Identificar e preservar um microsporídeo isolado da lagarta da soja distribuídos em “Eppendorf” e armazenadas em congelador (-10°C).

## **MATERIAL E MÉTODOS:**

### **Isolamento do microsporídeo:**

Larvas de *A. gemmatilis*, provenientes da criação de insetos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e que apresentavam problemas de desenvolvimento e coloração esbranquiçada, foram

fragmentadas e observadas a presença de esporos. As que estavam infectadas foram trituradas e os fragmentos suspensos em água destilada, filtrados em gaze, centrifugados,

### **Inoculação dos esporos (Fig. 1):**

Após jejum de 24 horas, 60 larvas sadias de 2-3º estágios de *A. gemmatilis* foram individualizadas, colocadas em copos de plásticos descartáveis contendo dieta artificial sólida (Greene *et al.* 1976) pulverizada com suspensão de  $10^7$  esporos/ml de água destilada. As 60 larvas testemunhas, também individualizadas, receberam dieta pulverizada somente com água destilada. Após serem alimentadas por 48 horas, as dietas eram trocadas (sem esporos) e mantidas até as larvas virarem pupas.

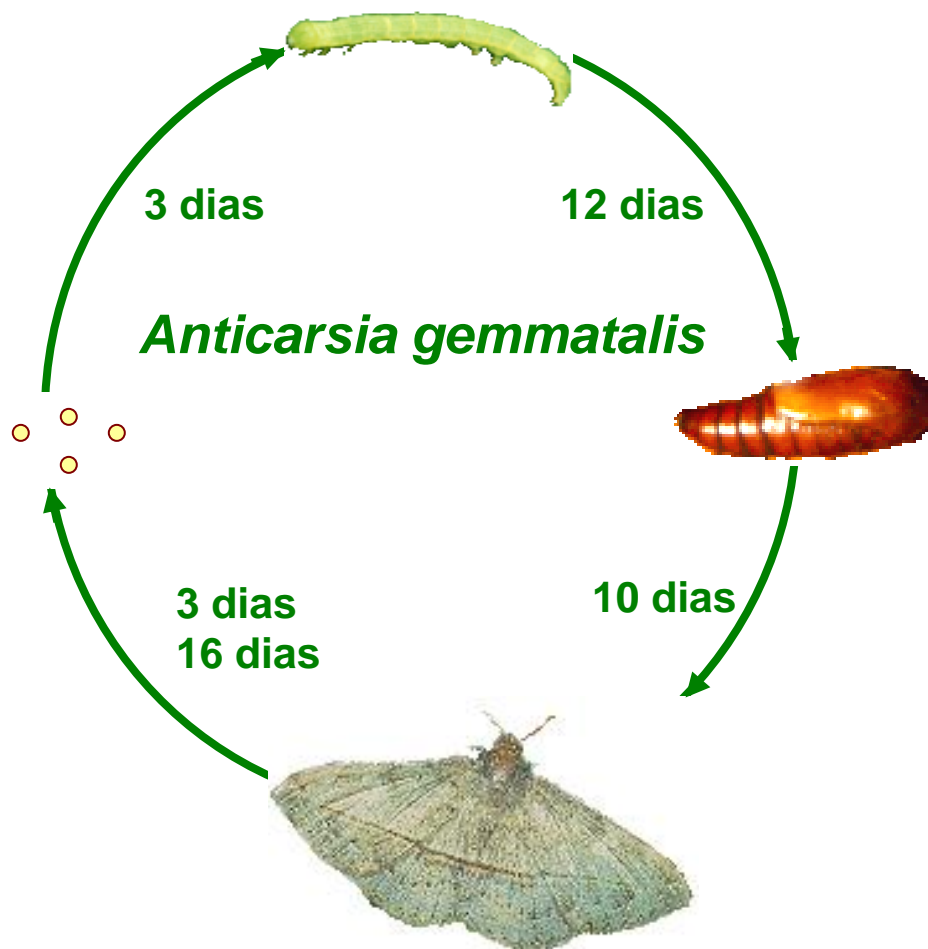


Figura 1. Ciclo de vida da *Anticarsia gemmatalis* (esquema cedido por Edson Sujii)

### Pupas e adultos:

Após a realização da sexagem, as pupas eram agrupadas e colocadas numa placa de Petri, sem tampa, e mantidas numa gaiola de acrílico (54cm X 45cm X 43cm), até tornarem-se adultos. Os adultos eram alimentados com dieta especial (Campo *et al.* 1985), sem esporos, e as gaiolas forradas com papel para a realização das posturas pelas fêmeas.

### Acompanhamento da infecção

Os ensaios foram realizados em um insetário regulado a 26°C, 70% de umidade relativa e

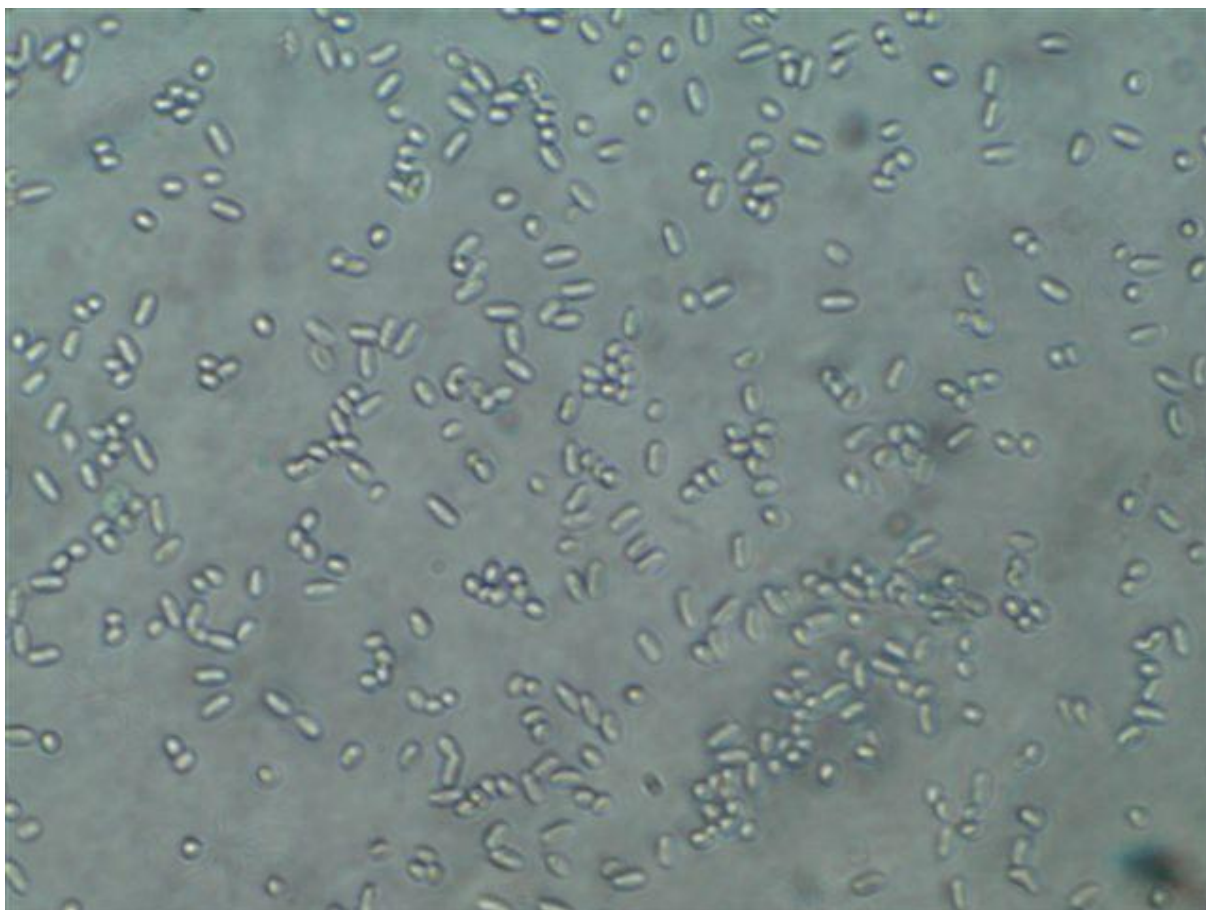
fotoperíodo de 14 h de luz: 10 h de escuro. As observações foram monitoradas diariamente e durante todas as fases de mudança do inseto (larva, pupa e adulto) fez-se o acompanhamento do seu crescimento e comportamento. Todas que morriam eram dissecadas e fragmentos eram observados em microscópios ótico e de contraste de fase para constatar a presença de esporos. No caso dos adultos verificaram-se trato intestinal e tecido adiposo. As posturas realizadas pelas fêmeas adultas eram contadas e os ovos que não eclodiam eram também fragmentados e observados em microscópio.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As análises microscópicas e sintomatológicas permitiram a comprovação da origem da doença e identificação do microrganismo, pertencente à família Microsporidae.

Excetuando as posturas, em todas as fases analisadas foram encontrados esporos típicos de microsporídeo (Fig. 2), provavelmente uma espécie do gênero dimórfico *Vairimorpha* (Dr. Carlos Lange, comunicação pessoal). O principal grupo de hospedeiro dos microsporídeos do gênero *Vairimorpha* pertence a família Noctuidae que é a maior da ordem Lepidoptera, onde se situa a lagarta da soja. É provável que se trate de uma nova espécie, pois nos levantamentos realizados até momento não foram encontrados registros de *Vairimorpha* infectando *A. gemmatilis*. As lagartas infectadas revelaram sintomas como perda do apetite, problemas de coordenação

dos movimentos, mudança de coloração, interferência no número e desenvolvimento da pupa e no número de posturas pelas fêmeas adultas. Segundo Solter & Maddox (1999), alguns microsporídeos são relativamente virulentos, podendo matar as larvas antes ou durante a pupação, mas o mais comum é causar uma debilidade crônica no hospedeiro. Os microsporídeos, apesar de apresentarem, na maioria das vezes, baixo nível de infecção, pela facilidade de transmissão de geração para geração no hospedeiro, permite que na população de insetos permaneça de forma endêmica, sendo este um fator importante para ser utilizado como estratégia em programas de controle biológico de pragas. Os trabalhos estão tendo continuidade para comprovação do gênero do microsporídeo e estudos cito-histopatológico, bem como para verificação de sua especificidade à lagarta da soja e facilidade de transmissão para as gerações seguintes.



**Figura 2.** Esfregaço de fragmentos do trato intestinal contendo esporos de microsporídeo isolado de *A. gemmatalis* (Foto: C. Melo)

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Campo, C.B.H., Oliveira, E.B., Moscardi, F.. 1985. Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*). **EMBRAPA, CNPSo**, Londrina, 23p. (Documentos, 10).

Greener, G.L., Leppla, N.C., Dickerson, W. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economy Entomology**, 69(4): 487-8.

Moscardi, F. 1998. Utilização de vírus entomopatogênicos em campo. In: Alves, S.B., ed. **Controle microbiano de insetos**, 2ªed.. Piracicaba: FEALQ/USP, p.509-39.

Moscardi, F. 1999. Assessment of the application of Baculoviruses for control of Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, 44: 257-89.

Silva, J.B.T., Magalhães, B.P., Silva, A.A. 1996. Pathogenicity of *Nosema locustae* Canning (Protozoa: Microspora) against *Rhammatocerus schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae) and *Stiphra robusta* (Orthoptera: Proscopidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, 25(3): 545-547.

Solter, L.F., Maddox, J.V.. 1999. Strategies for evaluating the host specificity of lepidoteran microsporidian. **Revista de la Sociedade Entomológica Argentina**, 58(1-2): 9-16.

Souza, M. L. de. 2001. Utilização de microrganismos na agricultura. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, 21: 28-31.

Street, D.A., McGuire, M.R., 1990. Pathogenic diseases of grasshopper. In; Chapman, R.F. , Joern, A., ed. **Biology of Grasshopper**. New York: John Wiley & Sons. p.481-516.

Vavra, J., Hylis, M., Vossbrinck, C.R., Pilarska, D.K., Linde, A., Weiser, J., Mcmanus, M.L., Hoch, G., Solter, L.F. 2006. *Vairimorpha*

*disparis* n. comb. (Microsporidia: Burenellidae): A Redescription and Taxonomic Revision of *Thelohania disparis* Timofejeva 1956, a Microsporidian Parasite of the Gypsy Moth *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae). **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, 53 (4), 292–304.

**Comunicado Técnico, 169**

**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia  
Serviço de Atendimento ao Cidadão  
Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372  
PABX: (61) 3448-4673 Fax: (61) 3340-3624  
<http://www.cenargen.embrapa.br>  
e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2007):

Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



**Comitê de Publicações**

**Presidente:** Sergio Mauro Folle  
**Secretário-Executivo:** Maria da Graça Simões Pires Negrão

**Membros:** Arthur da Silva Mariante  
Maria da Graça S. P. Negrão  
Maria de Fátima Batista  
Maurício Machain Franco  
Regina Maria Dechechi Carneiro  
Sueli Correa Marques de Mello  
Vera Tavares de Campos Carneiro

**Expediente**

**Supervisor editorial:** Maria da Graça S. P. Negrão  
**Normalização Bibliográfica:** Maria Iara Pereira Machado  
**Editoração eletrônica:** Maria da Graça Simões Pires Negrão